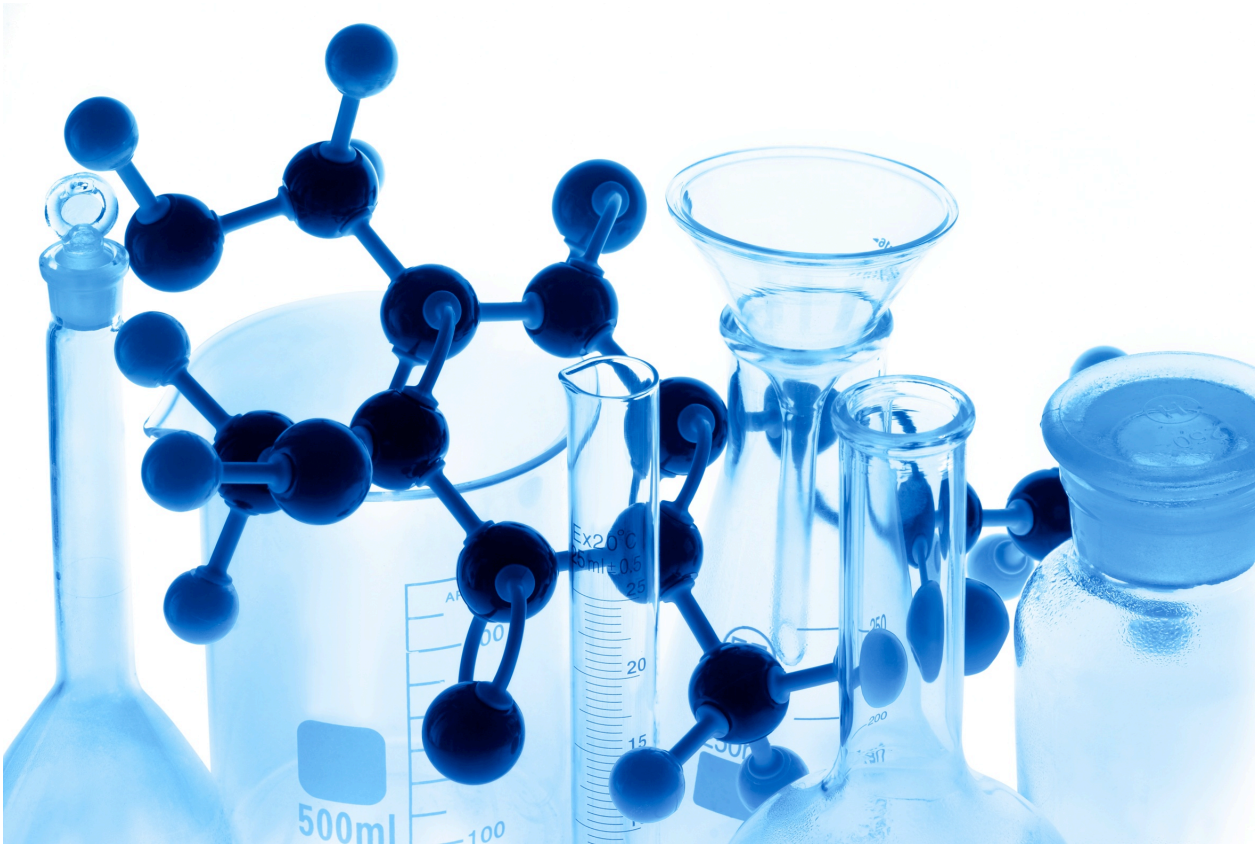
Haute Ecole Léonard de Vinci
Institut Paul Lambin
Associé à l'Université Catholique de Louvain

Travaux pratiques de chimie analytique à l'attention des élèves de l'enseignement secondaire.



Avant-propos :

L'Institut Paul Lambin (IPL), membre de la Haute Ecole VINCI, propose des formations de type court (bachelier) dans cinq disciplines différentes : la chimie, la biologie médicale, la diététique, l'imagerie médicale et l'informatique de gestion.

Le département de chimie de l'IPL possède les infrastructures et l'appareillage nécessaire à la formation de techniciens chimistes et met ces infrastructures et cet appareillage à disposition des écoles secondaires qui souhaitent réaliser des travaux pratiques de chimie dans le domaine de la chimie analytique.

Les professeurs intéressés sont invités à suivre une formation d'une demi-journée afin de se familiariser à l'utilisation du matériel requis pour la réalisation d'une ou de plusieurs analyses. Par la suite, ils ont la possibilité de réaliser ces manipulations avec leurs élèves de manière autonome. Un professeur de l'IPL est toujours présent et disponible pour répondre aux problèmes qui pourraient survenir mais celui-ci n'encadre pas directement les élèves.

La formation des enseignants est fixée au début du premier et du second semestre, en septembre et en janvier, un mercredi après-midi. De nombreuses dates sont proposées en cours d'années pour accueillir les élèves et leurs professeurs. La participation financière demandée aux écoles pour couvrir les frais d'utilisation des appareils et la consommation des produits est de 35 euros par demi-journée et par type d'analyse, quel que soit le nombre d'étudiants impliqués (la formation des professeurs est gratuite).

Six analyses chimiques différentes sont proposées, trois au premier semestre et trois autres au second semestre (cf. programme des activités, page suivante).

Durée des ateliers:
3 heures / analyse

Lieu :
Laboratoires A222 et A223 de l'Institut Paul Lambin,
43 Clos Chapelle-aux-Champs, 1200 – Bruxelles,
à proximité du métro ligne 1B (station Alma).

Renseignements et inscriptions :
Daniel Legendre
Daniel.legendre@ipl.be
02-764-4672

Programme des activités

1er semestre

- Dosage du contenu en alcool d'une boisson par Chromatographie en Phase Gazeuse (GC-FID)

Le dosage est réalisé en établissant une droite d'étalonnage à l'aide de solutions standards d'éthanol de concentration connue et d'un standard interne, le propanol.

- Dosage du toluène dans l'essence par Chromatographie en Phase Gazeuse (GC-FID)

Le dosage est réalisé en établissant une droite d'étalonnage à l'aide de solutions standards de toluène de concentration connue et d'un standard interne, le nonane.

- Identification et dosage du principe actif d'un médicament par HPLC

Le principe actif d'un médicament est identifié par son temps de rétention et dosé en établissant une droite d'étalonnage à l'aide de solutions standards du principe actif de concentration connue et d'un standard interne, la phénacétine.

2ème semestre

- Dosage des ions Na^+ et K^+ dans une eau minérale par photométrie de flamme

Les ions Na^+ et K^+ sont dosés en établissant une droite d'étalonnage à l'aide de solutions standards contenant des concentrations connues en NaCl et KCl.

- Dosage du fer par titrage potentiométrique

Le titrage du Fe^{2+} est réalisé à l'aide d'une solution de dichromate de potassium de concentration connue en utilisant une électrode de référence au calomel et une électrode indicatrice de platine.

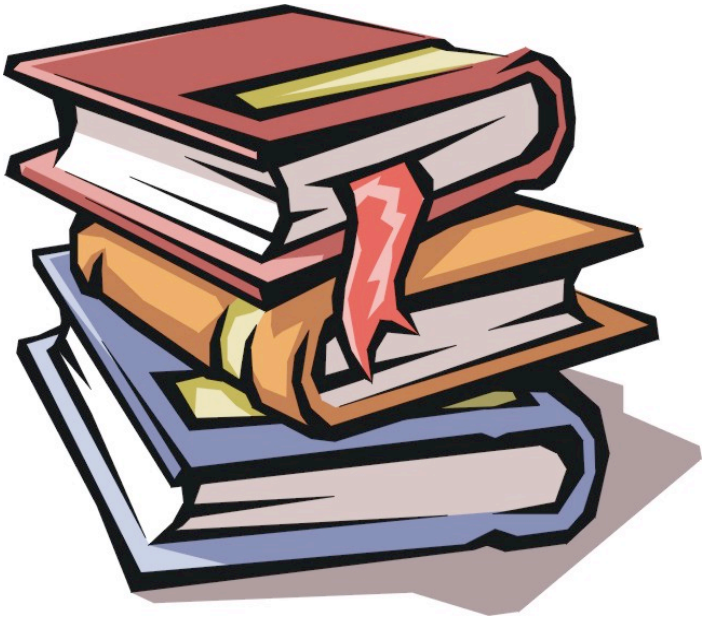
- Dosage de deux composés organiques par spectroscopie infrarouge

- Les composés dosés sont la cyclohexanone et le DMF. Dans un premier temps, les spectres IR de ces composés sont pris et analysés. Le dosage se fait ensuite sur base du pic d'absorption du carbonyle de ces composés en établissant une droite d'étalonnage à l'aide de solutions standards contenant des concentrations connues en cyclohexanone et en DMF.

Haute Ecole Léonard de Vinci
Institut Paul Lambin
Associé à l'Université Catholique de Louvain

Travaux pratiques de chimie analytique
à l'attention des élèves de l'enseignement secondaire

Modes opératoires



Département de chimie
2013-2014

Table des matières.

1. Dosage de l'éthanol dans des boissons alcoolisées par GC-FID 6
- **1.1. Préparation des standards et de l'échantillon à analyser 6**
- **1.2. Etalonnage et analyse de l'inconnue 7**
- **1.3. Mode d'emploi de la micro-seringue GC 9**
- **1.4. Procédure d'analyse (sur le GC STANG N° 6) 11**
- **1.5. Exemple de chromatogramme 13**

2. Dosage du toluène dans l'essence par GC-FID 14
- **2.1. Analyse qualitative de l'essence 14**
- **2.2. Dosage du toluène dans l'essence. 15**
- **2.3. Etalonnage et analyse de l'inconnue 15**
- **2.4. Chromatogramme de référence 17**
- **2.5. Exemple d'étalonnage 18**

3. Identification et dosage du principe actif d'un médicament par HPLC. 19
- **3.1. Principes actifs dosés et standard interne 19**
- **3.2. Contrôle d'une pipette automatique de 1,000 ml 20**
- **3.3. Préparation des solutions 20**
- **3.4. Etalonnage et analyse de l'inconnue 21**
- **3.5. Exemple de chromatogramme 22**
- **3.6. Exemple d'étalonnage 22**
- **3.7. Volume occupé par 1,0000 g d'eau à différentes températures 23**

4. Dosage des ions Na^+ et K^+ dans une eau minérale par photométrie de flamme 24
- **4.1. Préparation des standards et de l'échantillon. 24**
- **4.2. Etalonnage et analyse de l'inconnue 25**

5. Dosage du fer par titrage Potentiométrique 26
- **5.1. Solutions à préparer 26**
- **5.2. Schéma du montage 27**
- **5.3. Dosage de la solution de fer 27**
- **5.4. Exemple de courbe de titrage 28**

6. Dosage d'un mélange cyclohexanone/ diméthylformamide (DMF) par spectroscopie infrarouge 29
- **6.1. Analyse des spectres IR des produits purs 29**
- **6.2. Etalonnage et analyse de l'inconnue 30**
- **6.3. Exemple d'étalonnage 31**

1. Dosage de l'éthanol dans des boissons alcoolisées par GC-FID

1.1. Préparation des standards et de l'échantillon à analyser

Préparation des standards

On dispose de solutions stocks :

solution stock A contenant environ 10g/100ml d'éthanol
solution stock B contenant environ 10g/100ml de propan-1-ol
Les concentrations sont exactement connues et les valeurs sont indiquées sur le flacon.

Dans 4 flacons bouchés introduire les volumes suivants à la pipette jaugée :

1	10 ml de A	30 ml de B
2	20 ml de A	20 ml de B
3	25 ml de A	15 ml de B
4	30 ml de A	10 ml de B

Homogénéiser les mélanges.

Préparations de l'échantillon à analyser

Filtrer les boissons gazeuses deux fois à l'aide d'un entonnoir en verre et d'un filtre en papier

plissé.
Dans un berlin de 100 ml , peser exactement environ 2 g de propan-1-ol et ajouter environ 20 ml d'eau. Ajouter ensuite à la pipette jaugée un volume précis de la boisson choisie (cf. ci-dessous). Transférer quantitativement la solution dans un jaugé de 100 ml. Mettre au trait de jauge avec de l'eau.

- Pour la bière ou le vin, doser 25 ml.

- Pour les alcools secs, doser 5 ml.

1.2. Etalonnage et analyse de l'inconnue

Conditions d'analyse :
Éluant : azote (N_2)
Phase stationnaire : polydiméthylsiloxane (phase liquide immobilisée sur les parois internes d'un capillaire).
Programmation en température : 50 °C (mode isotherme).

Injecter 0,5 µl de chacune des 4 solutions standards ainsi que 0,5 µl de la solution de boisson.

Compléter les tableaux ci-dessous : calculer les concentrations des différents standards, reporter les surfaces lues sur les chromatogrammes, calculer les rapports de surface.

Etalons	[éthanol] en g/100mll	[propanol] en g/100ml	[éthanol] / [propanol]
1			
2			
3			
4			

Etalons	Surface pic éthanol	Surface pic propanol	$S_{éthanol}$ / $S_{propanol}$
1			
2			
3			
4			

Etablir la droite d'étalonnage en portant le rapport des surfaces en fonction du rapport des concentrations.

Pour le chromatogramme de la boisson, calculer le rapport des surfaces des pics de l'éthanol sur celui du propanol.

Reporter sur le graphique le rapport de surface pour la boisson et en déduire le rapport des concentrations, qui correspond aussi au rapport des masses dissoutes dans la préparation de l'échantillon. Appelons ce rapport Y :

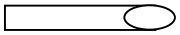
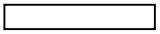
$$Y = \frac{\text{masse (inconnue) d'éthanol}}{\text{masse (connue) de standard interne (propanol)}}$$

La masse d'éthanol présente dans le volume prélevé de boisson (5 ou 25 ml) peut donc être facilement calculée puisque la masse dissoute de standard interne est connue.
Calculer ensuite la masse d'éthanol par 100 ml de boisson.
Enfin, connaissant la densité de l'éthanol (0,78 g/ml), calculer la concentration en ml d'éthanol pur par 100 ml de boisson (ce qui correspond aux 'degrés' indiqués sur la bouteille).

1.3. Mode d'emploi de la micro-seringue GC

Avant l'injection

Inspecter la seringue : vérifier la mobilité parfaite du piston et contrôler la propreté de l'extrémité de l'aiguille (absence de peluches, morceaux de septum…).

NB : l'aiguille d'une seringue GC a une extrémité *pointue* 
alors que celle d'une aiguille HPLC est droite 

Signaler toute anomalie au professeur avant de poursuivre

Rincer la seringue : 3 à 5 fois en la remplissant complètement avec un solvant adapté aux substances analysées. Lors du remplissage, le piston doit être déplacé **doucement**. A chaque rinçage, vérifier que du liquide sort de l'aiguille. Ne pas immerger complètement la seringue dans le solvant (*cela pourrait dissoudre la colle utilisée pour assembler les différentes pièces de la seringue*).

Injection

Remplir doucement la seringue avec la solution à analyser.
Enfoncer le piston jusqu'au volume souhaité.
Essuyer l'aiguille avec un papier absorbant.
Remonter le piston à mi-hauteur de manière à vider l'aiguille.
Contrôler la présence de liquide dans le corps de la seringue (si ce n'est pas le cas : refaire le prélèvement).

Placer l'aiguille perpendiculairement à l'injecteur (! chaud = 200°C).

Percer le septum et enfoncer l'aiguille – si on rencontre une résistance ne pas forcer : retirer l'aiguille et recommencer le mouvement.

Compter 2 secondes (chauffage de l'aiguille) et injecter rapidement le contenu de la seringue (attention : ne pas « taper » le piston en fin de course).

Attendre 1 seconde et retirer l'aiguille de l'injecteur.

Après l'injection

Rincer la seringue (contrôler l'entrée et la sortie du liquide) avec le solvant adéquat et la poser dans sa boîte.

NB : Les seringues GC sont **fragiles** et **chères** – les aiguilles peuvent être remplacées – les pistons ne peuvent *jamais* être interchangés.

Conseils supplémentaires

Pour espérer une certaine précision dans les volumes prélevés on conseille de ne pas prendre moins de 10% du volume de la seringue.

Ne jamais forcer un piston quand il coince (les surpressions peuvent endommager le corps de la seringue et on risque de tordre le piston). Essayer de le retirer puis de le nettoyer avec un chiffon et un peu de solvant. Essuyer le piston correctement avant de le remonter dans la seringue.

Eviter les mouvements du piston quand la seringue est à sec.

Les pistons ne sont jamais interchangeables !

Les aiguilles peuvent être « ramonées » à l'aide de petits fils métalliques très fins fournis. Si le nettoyage est infructueux il est possible, sur certain modèle de seringue, de remplacer l'aiguille (modèle RN = removable needle - le plus courant à l'IPL).

1.4. Procédure d'analyse (sur le GC STANG N° 6)

a. Programmation

Interrupteur général (à l'arrière en bas à droite, un large en plastic, pas un petit en métal).

Programmation des paramètres d'analyse :
Choisir un **N°** de programme dans le pavé "Programming" (témoin vert allumé).

Créer un isotherme:
Appuyer sur la touche ISOTH: si une programmation de température est déjà encodée, initialiser le programme en appuyant sur INIT / ENTER et sélectionner à nouveau le N° de programme.
Appuyer sur la touche ISOTH.
Oven security: par exemple 280°C / ENTER.
Wait: --.-- (rien) / ENTER.
Oven temp.: taper la température / ENTER.
Duration: --.--.-- (rien) / ENTER.

Créer une programmation de température:
Appuyer sur la touche TEMP PROG: si un isotherme est déjà encodé, initialiser le programme en appuyant sur INIT / ENTER et sélectionner à nouveau le N° de programme.
Appuyer sur la touche TEMP PROG.
Oven security: par exemple 280°C / ENTER.
Wait: --.-- (rien) / ENTER.
T 1: taper la T°C initiale / ENTER.
D 1: taper le temps désiré à la T°C initiale (pour une min., taper 00.01.00) / ENTER.
R 1: taper la vitesse de chauffe en °C/min / ENTER.
T 2: taper la T°C finale / ENTER.
D 2: introduire le temps désiré à la T°C finale / ENTER.
R 2, T 3 et D 3: si on désire une deuxième chauffe / ENTER à chaque entrée.
D. Analyse: information sur la durée totale de l'analyse (ne rien faire) / ENTER.
Cooling: taper la vitesse de refroidissement (par ex. 20,0°C/min) / ENTER.

Heating zones:
Injector 1: taper la T°C (200°C par ex.) / ENTER.
Détector 1: taper la T°C (280°C par ex.) / ENTER.
Auxiliary 1: ------ °C (rien) / ENTER.
Auxiliary 2: ------ °C (rien) / ENTER.

Detect:
Détector FID : ENTER.
Range: 11 (A/mV) / ENTER.
Auto zéro: Y/N: taper YES / ENTER.
Appuyer à nouveau sur le **N° de prog.** dans le pavé "Programming" (témoin vert éteint).

Envoyer les paramètres à l'appareil:
Ouvrir les deux vannes d'azote (la principale au mur et la secondaire de la canalisation noire).
Appuyer sur le N° de programme correspondant dans le pavé " Analysis" (témoin rouge allumé).
Appuyer sur la touche START.
Vérifier le chauffage des différentes zones en appuyant plusieurs fois sur la touche STATUS du

haut.

Remarques:
La touche ESCAPE permet à tout moment de quitter le menu en cours de programmation ou après la modification d'un paramètre, par exemple.
Après la modification d'un paramètre d'analyse, il faut à nouveau appuyer sur le N° de programme correspondant dans le pavé " Analysis" et sur la touche START.

b. Allumage de la flamme

Attendre que le détecteur soit chaud (voir la touche START).
Ouvrir les vannes principales et secondaires de l'hydrogène et de l'air.
Tirer délicatement vers soi quelques secondes le bouton d'amorçage du filament situé en dessous à gauche de l'appareil. La flamme s'allume en faisant un petit bruit, vérifier avec un verre de montre. Si nécessaire, baisser la pression de l'air en tournant la petite vanne de l'air située sur le dessus de l'appareil puis la faire remonter tout en allumant le filament d'amorçage.

c. Intégrateur

Interrupteur général à l'arrière à droite (attendre que les témoins lumineux ne clignotent plus)
Choisir un N° de File: taper sur FILE / N° / ENTER.

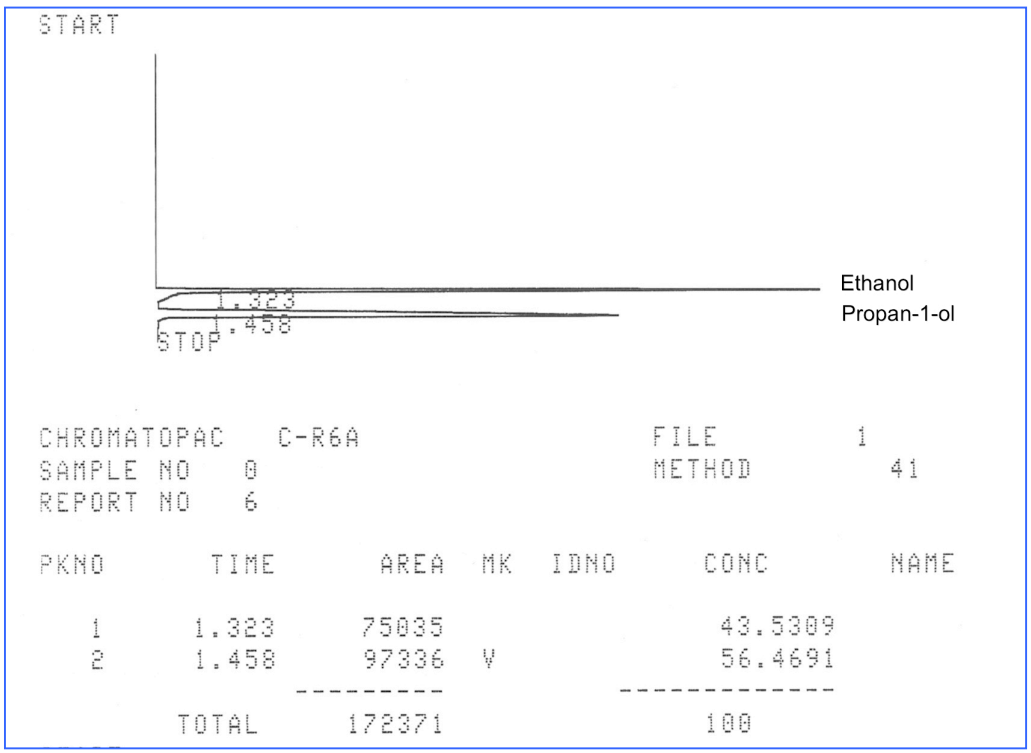
Les paramètres intéressants sont:
WITH: largeur du pic en dessous de laquelle le pic n'est pas intégré.
MIN. AREA: surface minimale du pic en dessous de laquelle le pic n'est pas intégré.
STOP. TM: durée du déroulement du papier.
ATTEN: valeur de l'atténuation.
SPEED: vitesse de déroulement du papier en mm/min.
Pour lister un paramètre: PRINT / appuyer sur le paramètre / ENTER.
Pour lister tous les paramètres: SHIFT DOWN / LIST / WIDTH / ENTER.
Pour modifier un paramètre: appuyer sur le paramètre / introduire la valeur / ENTER.

START: démarre le déroulement du papier.
STOP: arrête le déroulement du papier.
ZERO: repositionne la ligne de base à sa place (juste après avoir appuyer sur START par exemple).
FEED: fait avancer le papier sans impression, appuyer une seconde fois pour l'arrêter.

d. Injection

Appuyer sur la touche START, l'appareil est prêt lorsque le témoin READY est vert.
Injecter le volume souhaité.
En mode **isotherme**, appuyer sur START de l'intégrateur pour le démarrer.
En mode **programmation de T°C**, appuyer sur la touche INJECT du chromatographe :
- l'intégrateur et la programmation de T°C démarrent.
- arrêt automatique en fin de programmation et retour à la température initiale du four (si un "cooling" a été programmé).
Appuyer sur la touche END pour arrêter manuellement la programmation.

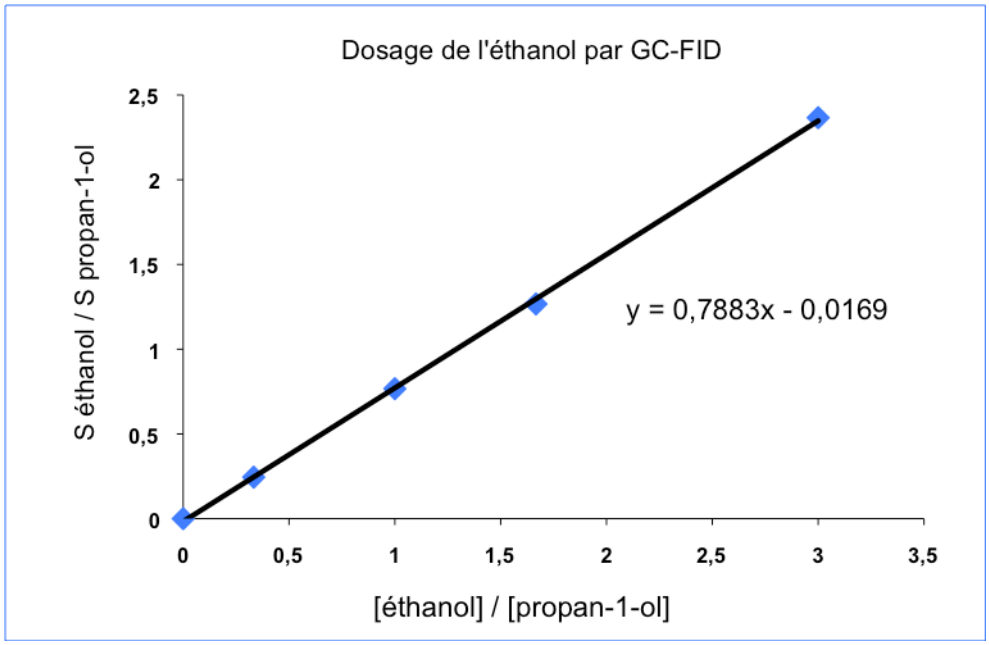
1.5. Exemple de chromatogramme



CHROMATOPAC C-R6A FILE 1
SAMPLE NO 0 METHOD 41
REPORT NO 6

PKNO	TIME	AREA	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1.323	75035			43.5309	
2	1.458	97336	V		56.4691	
	TOTAL	172371			100	

1.6. Exemple d'étalonnage



2. Dosage du toluène dans l'essence par GC-FID

2.1. Analyse qualitative de l'essence

Le but de cette analyse est d'observer les différents constituants de l'essence commerciale et d'identifier certains produits, dont le toluène, à l'aide d'un chromatogramme de référence.

Pour cette analyse, l'essence est diluée dans du n-pentane.

- Solution A : dans un tube à essais, introduire 0,5 ml d'essence (pipette automatique) et 5 ml de n-pentane (pipette à piston), homogénéiser. Il s'agit d'un mélange qualitatif, les volumes ne doivent pas être mesurés avec une grande précision.

Conditions d'analyse:
Éluant : azote (N_2)
Phase stationnaire : polydiméthylsiloxane (phase liquide immobilisée sur les parois internes d'un capillaire).
Programmation en température : 5 min à 40°C suivi d'un gradient de 5°C/minute jusqu'à une température finale de 110°C.

Injectez 1 µl de la solution A (l'utilisation de la micro-seringue et de la GC est décrite dans le chapitre concernant le dosage de l'éthanol, pages 10 à 13)

2.2. Dosage du toluène dans l'essence.

Le standard interne choisi pour ce dosage est le n-nonane.

- Solution B : dans un jaugé de 50 ml, peser avec précision environ 1,000 g de n-nonane (pipette Pasteur), porter au trait à l'aide de n-pentane et homogénéiser.

- Solution C : dans un tube à essais, introduire 1 ml d'essence (pipette automatique) et 10 ml de solution B (pipette à piston), homogénéiser.

Conditions d'analyse:
Éluant : azote (N_2)
Phase stationnaire : polydiméthylsiloxane (phase liquide immobilisée sur les parois internes d'un capillaire).
Programmation en température : 5 min à 40°C suivi d'un gradient de 5°C/minute jusqu'à une température finale de 110°C.

Injecter 1 µl de la solution C.

Identifier le pic correspondant au n-nonane par comparaison avec le chromatogramme obtenu lors de l'analyse qualitative.

2.3. Etalonnage et analyse de l'inconnue

- Solution D : dans un jaugé de 50 ml, peser 1,000 g de toluène (pipette Pasteur)et porter au trait à l'aide de n-pentane.

Dans des tubes à essais, préparer les mélanges suivants :

	ml D	ml B	[toluène] g/100 ml	[n-nonane] g/100 ml	[toluène] / [n-nonane]
1	**1**	**9**			
2	**2**	**8**			
3	**4**	**6**			
4	**6**	**4**			
5	**8**	**2**			

Conditions d'analyse:
Éluant : azote (N_2)
Phase stationnaire : polydiméthylsiloxane (phase liquide immobilisée sur les parois internes d'un capillaire).
Programmation en température : 70°C (mode isotherme).

Injecter 1 µl des solutions 1 à 5.

Reporter dans le tableau ci-dessous les surfaces lues sur le chromatogramme des pics correspondant au toluène et au n-nonane et calculer le rapport des surfaces.

	Surface pic toluène	**Surface pic n-nonane**	$S_{toluène} / S_{n\text{-}nonane}$
1			
2			
3			
4			
5			

Etablir la droite d'étalonnage en portant le rapport des surfaces en fonction du rapport des concentrations.

Sur base de l'analyse quantitative de l'essence (cf. 2.2), calculer le rapport des surfaces des pics du toluène et du n-nonane.
Reporter sur le graphique ce rapport et en déduire le rapport des concentrations.
Appelons ce rapport Y :

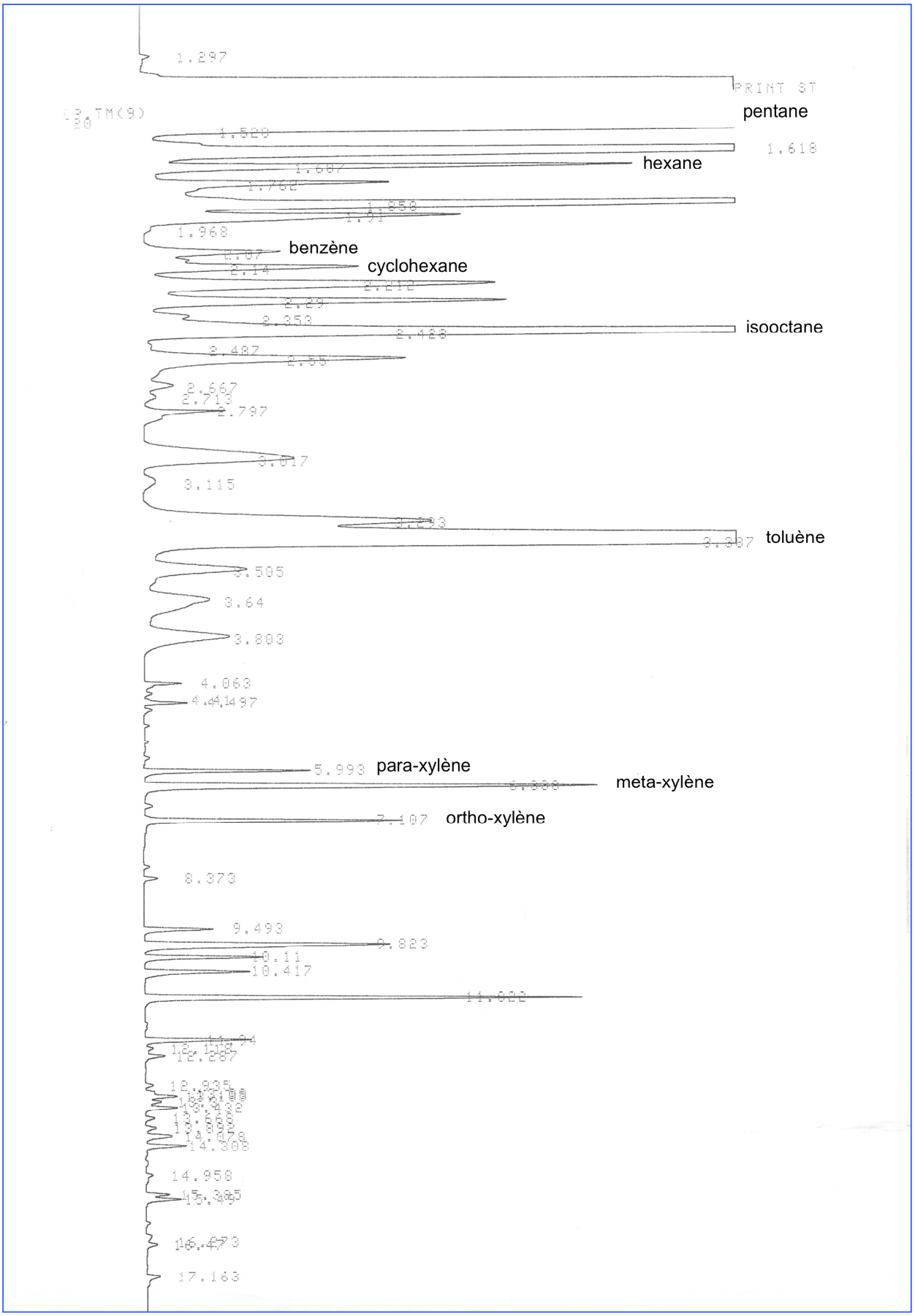
$$Y = \frac{\text{concentration (inconnue) en toluène}}{\text{concentration (connue) en standard interne (n - nonane)}}$$

La concentration en toluène dans la solution C qui a servi à l'analyse de l'essence peut donc être calculée aisément.
Pour connaître la concentration réelle du toluène dans l'essence il faut encore tenir compte de la dilution de l'essence dans la solution C.

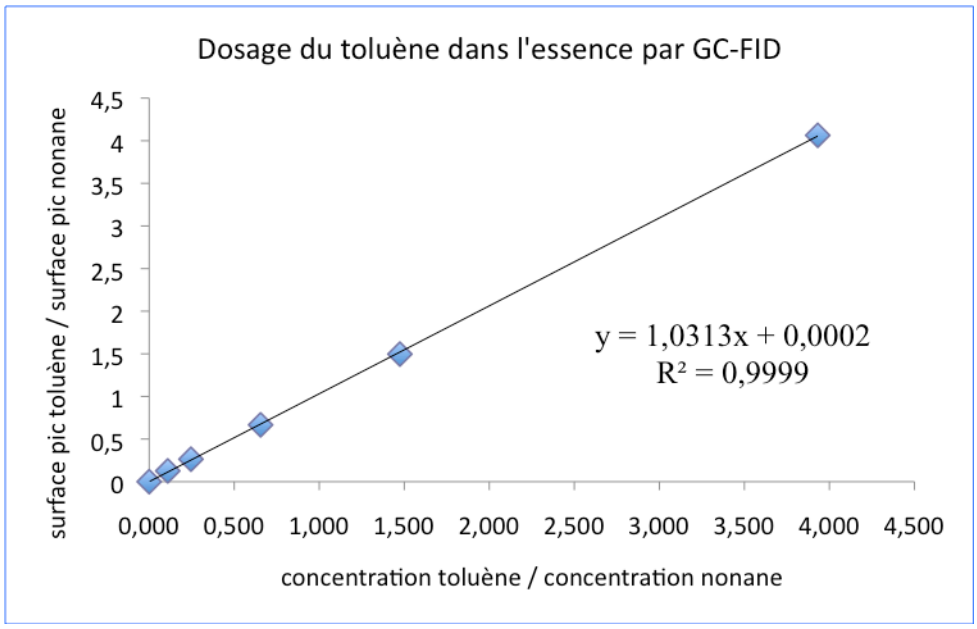
Remarque : On peut utiliser le même étalonnage pour évaluer la concentration en benzène dans l'essence.

! Les solutions sont à jeter dans le bidon de récupération « solvants non chlorés ».

2.4. Chromatogramme de référence



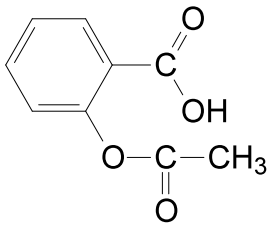
2.5. Exemple d'étalonnage



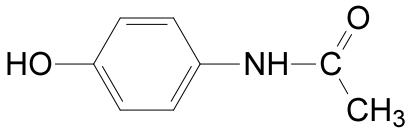
3. Identification et dosage du principe actif d'un médicament par HPLC.

3.1. Principes actifs dosés et standard interne

Principes actifs envisagés

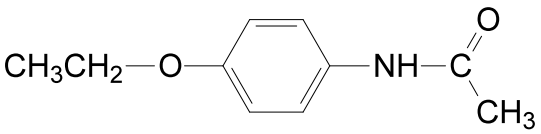


Acide acétylsalicylique (aspirine)



Paracetamol (Dafalgan)

Standard interne (SI):



Phénacétine

3.2. Contrôle d'une pipette automatique de 1,000 ml

Peser 5 fois 1,000 ml d'eau déminéralisée délivrés par la pipette automatique utilisée.
Calculer le volume correspondant à la pesée (grâce à la densité de l'eau à la température du jour, cf. table page 23).
Calculer le volume moyen obtenu et comparer à la valeur attendue :

$$\text{Erreur sur la moyenne} = \frac{\text{volume moyen (ml)} - 1\text{ ml}}{1\text{ ml}} \text{ x } 100$$

qui doit être inférieur à 1 % (en valeur absolue)

Calculer également l'écart relatif afin d'évaluer la dispertion des résultats (précision) :

$$\text{Ecart relatif} = \frac{\text{volume maximum (ml)} - \text{volume mininum (ml)}}{\text{volume moyen (ml)}} \, x \, 100$$

qui doit être inférieur à 1%

3.3. Préparation des solutions

On dispose de 3 solutions concentrées des 3 composés. La concentration exacte est notée sur le flacon (environ 1g/l).

Solution concentrée de paracétamol = solution A
Solution concentrée d'acide acétylsalicylique (aspirine) = solution B
Solution concentrée de phénacétine = solution C

Dilution du paracétamol.
Prélever 1000 µl (à l'aide de la pipette automatique) de la solution A et transférer dans un ballon jaugé de 25 ml. Porter à 25 ml à l'aide de solvant (mélange d'eau 70% et d'acétonitrile 30%) en portant au trait à l'aide de la pipette automatique. Calculer la concentration de cette solution (= solution D).

Dilution de la phénacétine (standard interne, SI)
Prélever 1000 µl (à l'aide de la pipette automatique) de la solution C et transférer dans un ballon jaugé de 25 ml. Porter à 25 ml à l'aide de solvant (mélange d'eau 70% et d'acétonitrile 30%) en portant au trait à l'aide de la pipette automatique. Calculer la concentration de cette solution (= solution E).

Préparer les standards comme indiqué dans le tableau ci-dessous.
Bien homogénéiser le contenu des tubes (au vortex).

Standards	Volume de solution D (paracétamol)	Volume de solution B (acide acétylsalicylique)	Volume de solution E (phénacétine)
1	200 µl	200 µl	600 µl
2	300 µl	300 µl	400 µl
3	350 µl	350 µl	300 µl
4	400 µl	400 µl	200 µl

Dilution de l'inconnue.
Dans un tube à essai mettre à la pipette automatique 600 µl d'inconnue et 400 µl de solution E (standard interne). Homogénéiser au vortex.

3.4. Etalonnage et analyse de l'inconnue

Conditions de la chromatographie :

Éluant : 30% d'acétonitrile (CH_3CN), 70% d'eau + 2% d'acide acétique (CH_3COOH).
Débit 1 ml/min.
Phase stationnaire : C18, particules de 3,5 ou 5 µm.
Détecteur UV : longueur d'onde 254 nm, sensibilité 0,5 AUFS.

Injections :
Chaque chromatographie dure environ 7 min. Il faut commencer à injecter les solutions dès que possible.

Injecter successivement :
10 µl des solutions D, B et E (permettant d'identifier les composés par leur temps de rétention).
10 µl des 4 standards et 10 µl de la solution inconnue diluée.

Compléter les tableaux ci-dessous : calculer les concentrations des standards, reporter les surfaces lues sur les chromatogrammes, calculer les rapports de surface.

Standards	Concentration en para en mg / ml	Concentration en aspirine en mg / ml	Concentration en SI en mg / ml	Conc. en para / conc. en SI	Conc. en aspirine/ conc en SI
1					
2					
3					
4					

Standards	Surface pic para	Surface pic aspirine	Surface pic SI	S_{asp} / S_{SI}	S_{Para} / S_{SI}
1					
2					
3					
4					

Etablir la droite d'étalonnage en portant le rapport des surfaces en fonction du rapport des concentrations.

Sur base du chromatogramme de la solution inconnue diluée, déterminer la nature du principe actif présent dans l'inconnue et calculer le rapport des surfaces du pic du principe actif sur celui du SI.

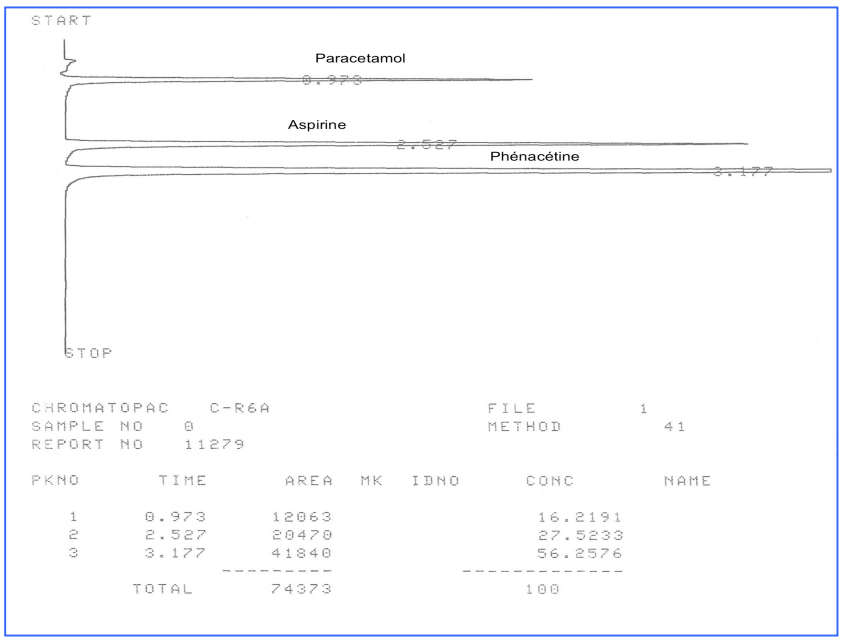
Reporter sur la droite d'étalonnage le rapport des surfaces pour la solution inconnue diluée et en déduire le rapport des concentrations. Appelons ce rapport Y.

$$Y = \frac{\text{concentration (inconnue) de principe actif}}{\text{concentration (connue) de standard interne}}$$

La concentration du standard interne dans la solution inconnue diluée est aisément calculable (400 µl de solution E portés à 1000 µl).

Déduire la concentration en médicament dans l'inconnue diluée.
Un dernier calcul qui tient compte de la dilution de l'inconnue doit donc encore être fait pour obtenir la concentration du médicament dans la solution reçue non diluée.

3.5. Exemple de chromatogramme

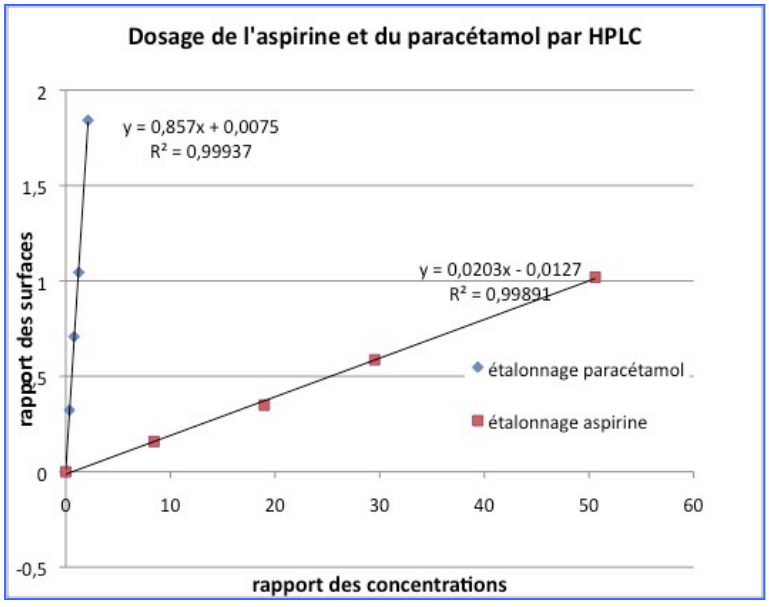


CHROMATOPAC C-R6A FILE 1
SAMPLE NO 0 METHOD 41
REPORT NO 11279

PKNO	TIME	AREA	MK	IDNO	CONC	NAME
1	0.973	12063			16.2191	
2	2.527	20470			27.5233	
3	3.177	41840			56.2576	
	TOTAL	74373			100	

<u>Paramètres de l'intégrateur :</u>
width 5,
att 2,
min area 1000,
speed 10,
stop time 10 min
slope : faire le S-test (shift down S-test enter)

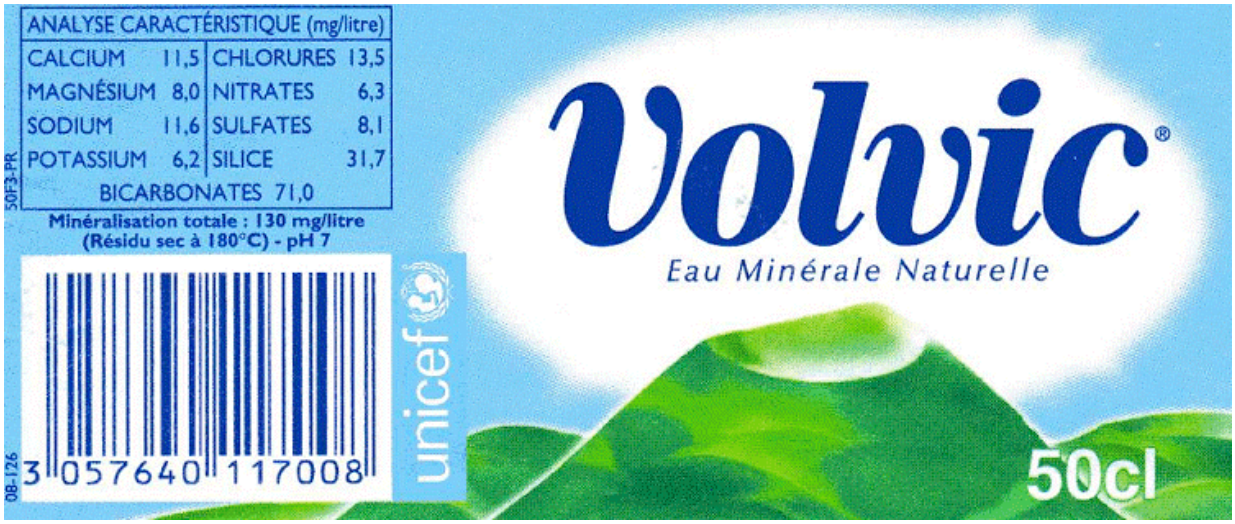
3.6. Exemple d'étalonnage



3.7. Volume occupé par 1,0000 g d'eau à différentes températures

Température, T (°C)	Volume (ml)	
	At T	Corrected to 20°C
10	1.0013	1.0016
11	1.0014	1.0016
12	1.0015	1.0017
13	1.0016	1.0018
14	1.0018	1.0019
15	1.0019	1.0020
16	1.0021	1.0022
17	1.0022	1.0023
18	1.0024	1.0025
19	1.0026	1.0026
20	1.0028	1.0028
21	1.0030	1.0030
22	1.0033	1.0032
23	1.0035	1.0034
24	1.0037	1.0036
25	1.0040	1.0037
26	1.0043	1.0041
27	1.0045	1.0043
28	1.0048	1.0046
29	1.0051	1.0048
30	1.0054	1.0052

4. Dosage des ions Na^+ et K^+ dans une eau minérale par photométrie de flamme



4.1. Préparation des standards et de l'échantillon.

Préparation des standards

Peser exactement environ 0,25 g de NaCl (MM 58,44) et 0,2g de KCl (MM 74,55) dans un même récipient (berlin). Dissoudre les deux sels dans un peu d'eau et porter à 100 ml dans un ballon jaugé (= solution A).

Diluer la solution A exactement 10 fois à l'aide d'une pipette jaugée de 10 ml et d'un ballon jaugé de 100 ml (= solution B).

Remplir une burette avec la solution B et préparer 5 jaugés de 100 ml (bien les rincer à l'eau déminéralisée).

Introduire dans chaque jaugé, le volume de solution B indiqué dans le tableau ci-dessous et compléter avec de l'eau déminéralisée jusqu'au trait de jauge. Bien homogénéiser.
Calculer les concentrations en Na^+ et K^+ des différents standards.

Standards	Volume en ml de solution B	Concentration en Na dans le jaugé (ppm)	Concentration en K dans le jaugé (ppm)
1	2		
2	4		
3	6		
4	8		
5	10		

Préparation de l'échantillon / analyse d'une eau minérale en bouteille

Sur l'étiquette de l'eau minérale à analyser, se trouve la concentration en Na et K. Si celles-ci sont plus élevées que les concentrations maximales de l'étalonnage, procéder à une dilution appropriée de cette eau avec de l'eau déminéralisée.

4.2. Etalonnage et analyse de l'inconnue

La photométrie de flamme est une méthode très sensible qui demande beaucoup de soin tant dans la préparation des solutions que lors de la mesure elle-même.

N.B. : Mise en route de l'appareil 10 minutes avant les premières mesures.

Vérifier le débit de l'appareil (cylindre gradué rempli d'eau + chronomètre) et la stabilité de la flamme. Le débit doit rester constant tout au long du dosage.

Procéder aux mesures :

- régler le filtre pour la mesure du Na.
- régler le zéro sur l'eau déminéralisée et le 100 sur la solution la plus concentrée.
- Passer toutes les solutions standards successivement et noter les intensités de lumière émises.
- Faire aspirer enfin la boisson (telle quelle ou diluée suivant le cas).

- régler le filtre pour la mesure du K.
- régler le zéro sur l'eau déminéralisée et le 100 sur la solution la plus concentrée.
- Passer toutes les solutions standards successivement et noter les intensités de lumière émises.
- Faire aspirer enfin la boisson (telle quelle ou diluée suivant le cas).

Pour plus de précision, les séries de mesures peuvent être répétées une ou deux fois. Dans ce cas, les valeurs moyennes des intensités de lumière seront calculées pour les étalons et l'échantillon à analyser.

Standards	Signal Na mesuré	Signal K mesuré
1		
2		
3		
4		
5		

Porter en graphique les intensités (ou intensités moyennes si plusieurs mesures ont été réalisées) des étalons en fonction de leurs concentrations exprimées en ppm de Na et de K (deux droites). Ne pas oublier le point « 0,0 ».

En portant les intensités mesurées pour le Na et le K de l'eau minérale (ou de sa solution diluée) sur le graphique on trouve les concentrations recherchées en Na ou K.

5. Dosage du fer par titrage Potentiométrique

$$6\ Fe^{2+} + Cr_2O_7^{2-} + 14\ H^+ \longrightarrow 6\ Fe^{3+} + 2\ Cr^{3+} + 7\ H_2O$$

5.1. Solutions à préparer

Solutions stocks (fournies) :

- Solution stock de $K_2Cr_2O_7$ (environ 0,0200 M). La concentration exacte est indiquée sur le flacon.

- Solution stock de Fe^{2+} (environ 0,1000 M). La concentration exacte est à déterminer par titrage.

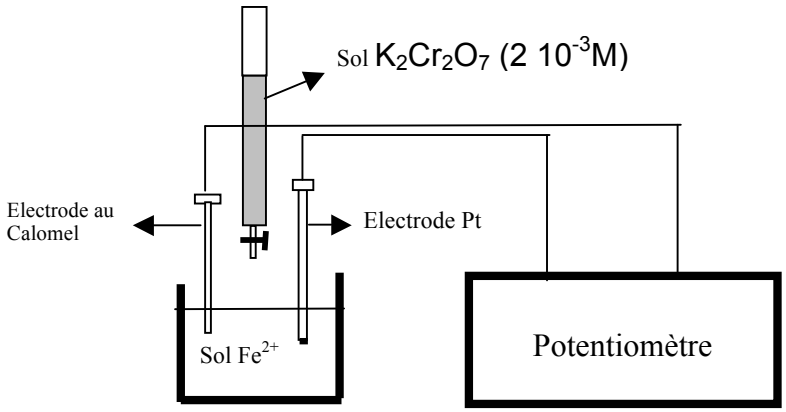
- Solution 1M en H_2SO_4

Solutions de travail :

- Solution de $K_2Cr_2O_7$: diluer précisément la solution stock 10 fois par H_2SO_4 1M (préparer 100 ml). Le ballon jaugé est rempli avec l'acide sulfurique jusqu'à quelque distance du trait de jauge, ensuite il est complété avec de l'eau déminéralisée à la pissette.

- Solution inconnue de Fe^{2+}: diluer précisément la solution stock 10 fois avec de l'eau dans un ballon jaugé (préparer 100 ml).

5.2. Schéma du montage



5.3. Dosage de la solution de fer

Préparer une burette remplie de la solution diluée en $K_2Cr_2O_7$.
Prélever exactement 25 ml (pipette jaugée) de solution de Fe^{+2} et transvaser dans un berlin de 250 ml.
Titrer la solution inconnue en n'oubliant pas d'ajouter un barreau magnétique et en veillant à bien homogénéiser la solution en cours de titrage. Noter les valeurs des différences de potentiel après chaque ajout d'agent titrant Le premier titrage sera établi par des ajouts systématiques de 1 ml.

Tracer le graphique expérimental obtenu (différence de potentiel en fonction du volume de titrant) sur papier millimétré et déterminer la position approximative du point d'équivalence.

Recommencer le même titrage en espaçant les mesures au début et à la fin du titrage, mais par 0,2 ml aux alentours du volume de l'équivalence (de 2 ml avant à 2 ml après).

Tracer à nouveau le graphique expérimental sur papier millimétré et déterminer la position précise du point d'équivalence.

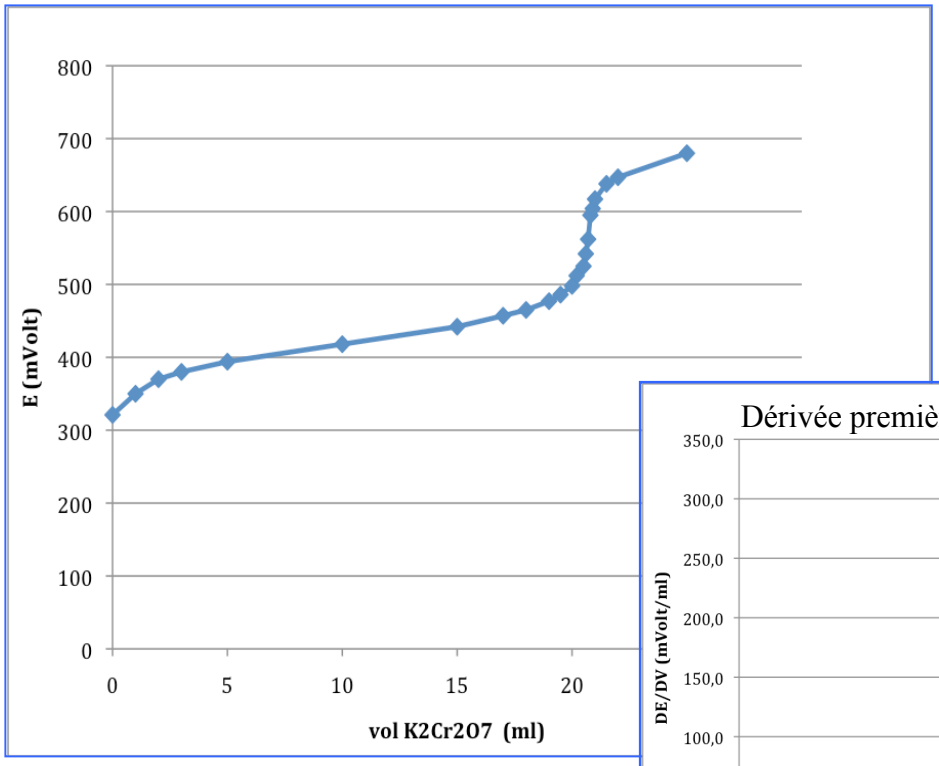
Grâce au volume à l'équivalence de solution de $K_2Cr_2O_7$ de concentration exactement connue, calculer la concentration en Fe^{2+} de la solution inconnue diluée de fer.

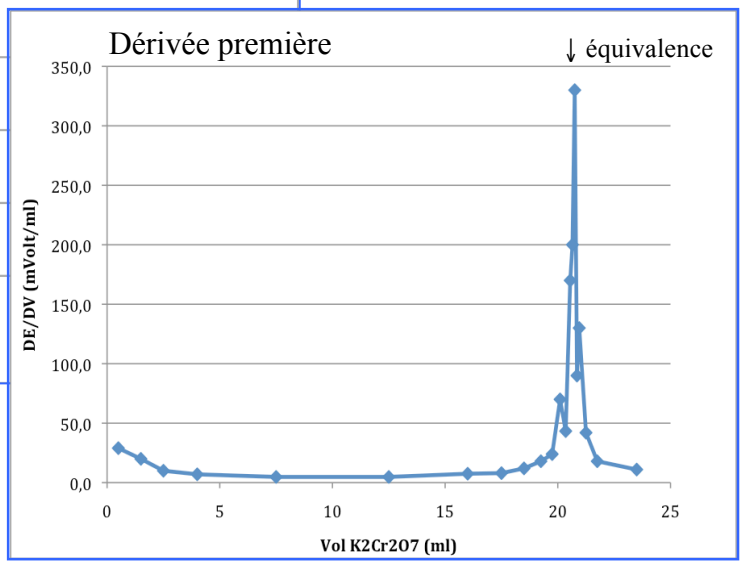
<u>Déchets</u>

Les solutions contenant du chrome **ne peuvent pas être jetées à l'évier**. Les verser dans le bidon de récupération prévu à cet effet.

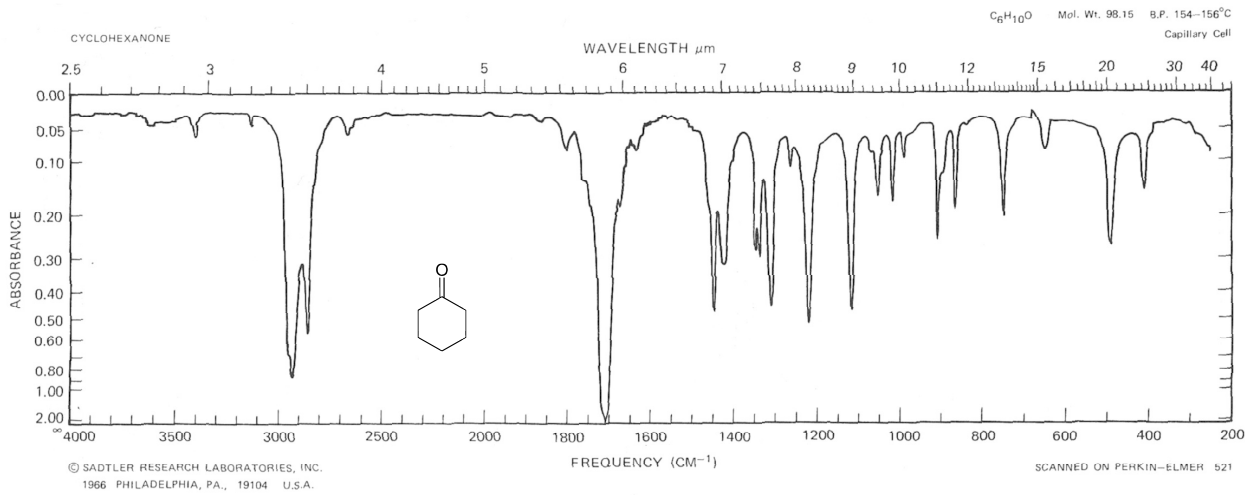
5.4. Exemple de courbe de titrage

vol $K_2Cr_2O_7$ (ml)	E (mV)	Vol $K_2Cr_2O_7$ (ml)	ΔE/ΔV
0	321		
1	350	0,5	29,0
2	370	1,5	20,0
3	380	2,5	10,0
5	394	4	7,0
10	418	7,5	4,8
15	442	12,5	4,8
17	457	16	7,5
18	465	17,5	8,0
19	477	18,5	12,0
19,5	486	19,25	18,0
20	498	19,75	24,0
20,2	512	20,1	70,0
20,5	525	20,35	43,3
20,6	542	20,55	170,0
20,7	562	20,65	200,0
Equivalence 20,8	595	20,75	330,0
20,9	604	20,85	90,0
21	617	20,95	130,0
21,5	638	21,25	42,0
22	647	21,75	18,0
25	680	23,5	11,0





6. Dosage d'un mélange cyclohexanone/ diméthylformamide (DMF) par spectroscopie infrarouge


CYCLOHEXANONE
$C_6H_{10}O$ Mol. Wt. 98.15 B.P. 154–156°C
Capillary Cell
WAVELENGTH μm
2.5 3 4 5 6 7 8 9 10 12 15 20 30 40
ABSORBANCE
0.00 0.05 0.10 0.20 0.30 0.40 0.50 0.60 0.80 1.00 2.00
4000 3500 3000 2500 2000 1800 1600 1400 1200 1000 800 600 400 200
FREQUENCY (CM^{-1})
© SADTLER RESEARCH LABORATORIES, INC.
1966 PHILADELPHIA, PA., 19104 U.S.A.
SCANNED ON PERKIN–ELMER 521

Comme en spectroscopie UV-visible, la relation de Lambert-Beer est applicable dans le domaine de l'infra-rouge.

$$A = \varepsilon.C.d = \log\frac{I_0}{I_t} = \log\frac{1}{T}$$

A = absorbance ; ε = coefficient d'absorptivité molaire ;
C = concentration (mol/L) du composé analysé

Idéalement, le composé dosé présentera un pic d'absorbance bien isolé et suffisamment intense.

L'objectif de la manipulation est de déterminer :

- le coefficient d'absorptivité molaire de la liaison carbonyle de deux liquides : DMF et cyclohexanone.

- la composition d'un échantillon (DMF + cyclohexanone) à l'aide des coefficients d'absorptivité molaire déterminés.

6.1. Analyse des spectres IR des produits purs

! Les cellules de KBr sont hygroscopiques : éviter tout contact avec les doigts ou avec l'eau et les alcools légers (méthanol, éthanol, propanol). Conserver les cellules de KBr dans un dessiccateur.

Enregistrer le BACKGROUND (spectre de l'air).

Utilisation des pastilles rondes de KBr.

Prendre le spectre en film des produits à l'état pur entre deux pastilles de KBr: cyclohexane, cyclohexanone et DMF.

Repérer la bande C=O des composés à doser et déterminer le nombre d'onde pour lequel l'absorption est maximale.

Nettoyer immédiatement les fenêtres rondes avec du CH_2Cl_2 sec (imbiber un papier absorbant) et les remettre dans le dessicateur.

6.2. Etalonnage et analyse de l'inconnue

Les solutions standards sont préparées à partir d'une solution stock de cyclohexanone et de DMF dans du cyclohexane (= solution A). La composition exacte est indiquée sur la bouteille (environ 5 g/l cyclohexanone et 2 g/l DMF).

Préparer les solutions nécessaires à l'étalonnage comme indiqué dans le tableau suivant:

	Volume sol. stock A (ml) (pipette automatiques)	**Volume de cyclohexane (ml) (pipette graduée à piston)**
Cyclohexane pur	**-**	**-**
Standard 1	**0.50**	**10.00**
Standard 2	**0.50**	**7,00**
Standard 3	**1.00**	**10,00**
Standard 4	**1.00**	**8,00**
Standard 5	**1,50**	**7.50**

Utilisation de la cellule IR à épaisseur fixe (à ne jamais démonter !)

Remplir la cellule à épaisseur fixe de cyclohexane.
Enregistrer le spectre de cette cellule comme BACKGROUND, en restreignant la plage de nombres d'ondes à la zone d'intérêt (de 1800 à 1600 cm^{-1}).
Ouvrir une nouvelle fenêtre et enregistrer le spectre du cyclohexane. Ceci permet d'établir la ligne de base.
Dans la même fenêtre, prendre successivement le spectre IR des différentes solutions standards (afficher tous les standards sur la même feuille).
Choisir l'absorbance comme ordonnée et relever les valeurs d'absorbances du pic du carbonyle de la cyclohexanone et du DMF pour chacune des solutions.

	[cyclohexanone]	**A cyclohexanone**
Cyclohexane pur	**0**	**0**
Standard 1		
Standard 2		
Standard 3		
Standard 4		
Standard 5		

	[DMF]	A DMF
Cyclohexane pur	**0**	**0**
Standard 1		
Standard 2		
Standard 3		
Standard 4		
Standard 5		

Etablir la droite d'étalonnage de la cyclohexanone et du DMF en portant en graphique l'absorbance mesurée en fonction de la concentration.

L'inconnue est un mélange de cyclohexanone et de DMF dans du cyclohexane.
Diluer la solution inconnue 5x (2 ml inconnue + 8 ml cyclohexane).
Prendre le spectre IR dans la cellule à épaisseur fixe (BACKG : cyclohexane identique à la standardisation). Les absorbances des deux pics analysés doivent être compris dans l'étalonnage. Dans le cas contraire, adapter la dilution.

Sur base des droites d'étalonnage, déterminer les coefficients d'absorptivité molaire de la liaison carbonyle de la cyclohexanone et du DMF ainsi que les concentrations en cyclohexanone et en DMF de la solution inconnue.

!Nettoyer et sécher la cellule à épaisseur fixe sans la démonter puis la replacer dans le dessicateur.

6.3. Exemple d'étalonnage